

HROC222 T1 M2 Cells | 300859

Obecné informace

Description

HROC222 T1 M2 je lidská buněčná linie kolorektálního adenokarcinomu vytvořená v rámci modelové sbírky HROC (Hansestadt Rostock Colorectal Cancer) z primárního nádoru resekovaného u dospělého pacienta. Označení „T1“ znamená, že vzorek byl získán při prvním chirurgickém zákroku, zatímco „M2“ označuje odpovídající in vitro model vytvořený z tohoto nádoru. Platforma HROC integruje komplexní biobanking, standardizované molekulární anotace a paralelní vytvoření xenotransplantátů odvozených od pacientů (PDX) a trvalých buněčných linií s nízkým počtem pasáží, což umožňuje klinicky anotované translační výzkumné modely.

Generování HROC222 T1 M2 proběhlo podle standardizovaných postupů zahrnujících mechanickou disociaci čerstvě resekované nádorové tkáně, přípravu suspenzí jednotlivých buněk a výsev na kolagenem potažené kultivační destičky v definovaném kultivačním médiu pro nádorové buňky doplněném glutaminem, antibiotiky a antimykotiky. V celé kohortě HROC byly úspěšně vytvořeny trvalé primární buněčné linie kolorektálního karcinomu z přibližně 13 % zkoumaných vzorků. Statistická analýza identifikovala vyšší stupeň nádoru jako významně asociovaný s úspěšným vytvořením primární buněčné linie, zatímco pokročilý stav uzlin vykazoval pozitivní trend. V multivariantské analýze celé sbírky se zapojení uzlin ukázalo jako nezávislý prediktor úspěchu vytvoření modelu.

Kolekce HROC zahrnuje všechny hlavní molekulární podtypy kolorektálního karcinomu, včetně nádorů s chromozomální nestabilitou (CIN), fenotypem metylátoru CpG ostrovů (CIMP), mikrosatelitní stabilitou (MSS) a vysokou mikrosatelitní nestabilitou (MSI-H), jakož i různorodé mutační pozadí ovlivňující klíčové geny, jako jsou KRAS, BRAF, TP53, APC a PIK3CA. HROC222 T1 M2 byl vytvořen v rámci tohoto přísně charakterizovaného rámce, což umožňuje integraci s podrobnými klinicko-patologickými a molekulárními údaji a, pokud jsou k dispozici, s odpovídajícím PDX materiálem. Jako model kolorektálního karcinomu s nízkým počtem pasáží odvozený od pacienta je HROC222 T1 M2 vhodný pro výzkum biologie nádorů, vztahů mezi genotypem a fenotypem a preklinické terapeutické testování v rámci přesné onkologické výzkumu.

Organism Člověk

Tissue Příčný tračník

Disease Adenokarcinom

Charakteristika

Age 79 let

Gender Muži

Ethnicity Kavkazský

Growth properties Adherentní

HROC222 T1 M2 Cells | 300859

Regulační údaje

Citation	HROC222 T1 M2 (katalogové číslo Cytion 300859)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ93
Depositor	M. Linnebacher

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Fluid renewal	Každých 3 až 5 dní
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

HROC222 T1 M2 Cells | 300859

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

HROC222 T1 M2 Cells | 300859

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.